

# Ökotoxikologische Testverfahren für die Prüfung der Bodenqualität am Beispiel aktueller Richtlinien mit Organismen der Bodenfauna

Frank Riepert \*

## **Zusammenfassung**

Der Bedeutung des Bodens als Lebensgrundlage und Lebensraum für Menschen, Tiere, Pflanzen und Bodenorganismen wird in der Gesetzgebung zunehmend Rechnung getragen. Teil der gesetzlichen Regelwerke sind Prüfanforderungen, die der Gefährdungsabschätzung von Stoffeigenschaften oder der Charakterisierung von Bodenverunreinigungen im Hinblick auf den Boden und seine Funktionen dienen. Die Bedeutung der Bodenorganismen und speziell der Bodenfauna für die Funktionen des Bodens ist erkannt, in der Literatur bereits vielfach beschrieben und wird nur kurz umrissen. Der Stand der Methodenentwicklung mit Organismen der Bodenfauna wird dargestellt. Da die Methodenentwicklung aus der Stoffprüfung hervorgegangen ist, bleibt für den Anwendungsbereich der Charakterisierung der Bodenqualität ein Bedarf an Anpassung existierender oder Entwicklung neuer spezieller Testverfahren. Erste Ansätze für Strategien des nutzungsbezogenen Einsatzes der Testverfahren zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Böden und Bodensubstraten befinden sich derzeit in der internationalen Abstimmungsphase.

**Summary** The significance of the soil as life basis and biotope for men, animals, plants and soil organisms is taken more and more into account by legislation. Part of the laws are test requirements for the hazard assessment of chemical properties or the characterization of the contaminated soil with respect to its functions. The importance of soil organisms and in particular the soil fauna for the functions of the soil has been identified and described sufficiently in literature and is only summarized shortly. The level of the development of methods with organisms of the soil fauna is outlined. As the test methods have been developed on the basis of chemical testing the existing test methods need to be adapted or new special methods should be developed for the characterisation of the soil quality. First approaches of strategies for applying the methods for the ecotoxicological characterization of soils and soil materials with respect to their function depending on the intended use are being harmonized internationally

## 1. Einleitung

Der Boden ist Lebensgrundlage und Lebensraum für Menschen, Tiere, Pflanzen und Bodenorganismen. Eine menschliche Existenz ist ohne die unterschiedlichsten Formen der Bodennutzung nicht denkbar (PADBERG 1997). Dieser einfachen aber wichtigen Einsicht folgend, erscheint es geboten, das nicht vermehrbare Schutzgut Boden vor nachteiligen Einwirkungen wie der Anreicherung oder Verlagerung umweltgefährlicher Stoffe zu schützen, um schädlichen Bodenveränderungen vorzubeugen oder aber durch geeignete Sanierungsmaßnahmen bereits eingetretene Schädigungen zu beseitigen.

Die Gesetzgebung versucht in zunehmendem Maße, zuletzt mit dem Entwurf des Bundes-Bodenschutzgesetzes, zuvor aber auch mit Umwelt- und landwirtschaftlichen Fachgesetzen und Verordnungen (Chemikaliengesetz, Klärschlammverordnung, Pflanzenschutzgesetz), diesem Erfordernis einen rechtlichen Rahmen zu geben.

Mit der Entwicklung und Erweiterung umwelt- und speziell bodenbezogener Schutzziele in dieser Gesetzgebung ging zur Abschätzung möglicher Gefährdungspotentiale von Stoffen die Formulierung von Prüfanforderungen einher. § 1 des Pflanzenschutzgesetzes fordert u.a., daß Gefahren abzuwenden sind, die durch die Anwendung von Pflanzenschutzmitteln oder durch andere Maßnahmen des Pflanzenschutzes, insbesondere für die Gesundheit von Mensch und Tier und für den Naturhaushalt, entstehen können. Die Definition für Naturhaushalt nennt ausdrücklich den Boden als Bestandteil. Neben Prüfanforderungen zum Verhalten und Verbleib von Stoffen im Boden wurden auch solche formuliert, die die toxische Wirkung von Stoffen auf meist wenige Vertreter der Bodenfauna beschreiben. Die Prüfnachweisverordnung zum Chemikaliengesetz verlangt beispielsweise in einem abgestuften Prüfkonzepth bei Erreichen einer Vermarktungsmenge von mehr als 100 t/a erstmalig im Anmeldeverfahren den Nachweis über die Prüfung der Wirkungen auf höhere Pflanzen sowie auf eine Regenwurmart.

Der Testorganismus Regenwurm steht hier stellvertretend für alle bodenlebenden Tiere des Edaphons. Das zur Ausführung dieser Prüfanforderung entwickelte Prüfverfahren, das mit seinen Testparametern die Datengrundlage einer späteren Gefährdungs- und Risikoabschätzung liefert, besitzt ein Testprinzip, das ganz im Sinne der klassischen Toxikologie die Toxizität eines Stoffes durch die Abhängigkeit seiner schädigenden Wirkung von der wirksamen Dosis an einem bestimmten Individuum (hier: der Kompostwurm *Eisenia fetida*) charakterisiert.

Im Unterschied zur Toxikologie, deren Erkenntnis- und Schutzziel primär der Mensch ist, erweitert die Ökotoxikologie diesen Anspruch um die Objekte der Biologie insgesamt (RUDOLPH & BOJE 1986).

Die toxikologischen Mono-Spezies-Tests werden insofern zu ökotoxikologischen Bewertungen herangezogen, als mit ihrer Hilfe Verhalten und Wirkung im Ökosystem abgeschätzt werden sollen (SCHLOSSER 1988).

Ökotoxikologische Testverfahren finden nicht nur im stofflichen Regelungsbereich Anwendung, sondern sind auch Teil bodenökologischer Untersuchungen. Die Aufklärung

der Wechselbeziehung zwischen Bodenorganismen und Bodeneigenschaften ist Gegenstand bodenökologischer Forschung (EISENBEIS & JOSCHKO 1995).

## 2. Bodenorganismen und ihre Bedeutung für die Bodenqualität

Von der Masse her gesehen ist der Beitrag der Bodenorganismen am Boden eher gering. Die in der Ökologie als Edaphon bezeichnete Gesamtheit der im Boden lebenden Organismen (Bakterien, Aktinomyzeten, Pilze, Algen und die Bodentiere) macht nach DUNGER 1983 ungefähr 6,5 % der organischen Substanz der oberen, belebten Bodenschicht (ca. 30 cm Tiefe) eines frischen Laub-Mischwaldes mit Mullhumus aus. Der Anteil der Bodenfauna am Edaphon beträgt schätzungsweise 25 %. Dennoch stehen wir auf ungeheuren Individuenzahlen aus einer Fülle von Arten (BECKER 1991).

**Tab. 1:** Nach Größe geordnete Übersicht der wichtigsten Gruppen der Meso- und Makrofauna landwirtschaftlich genutzter Böden und ihre durchschnittliche Individuenzahl

| Größenbereich mm | Bezeichnung                             | Durchschnittl. Individuenzahl je m <sup>2</sup> Bodenoberfläche und Besiedlungstiefe |
|------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 0,1 - 1          | Rädertierchen (Rotatoria)               | 10 000 – 25 000                                                                      |
| 0,2 - 2          | Fadenwürmer (Nematoda)                  | 1 – 3 Mio                                                                            |
| 0,2 - 3          | Milben (Acari)                          | 70 000 – 100 000                                                                     |
| 0,4 - 3          | Springschwänze (Collembola)             | 50 000 – 100 000                                                                     |
| 1 - 40           | Kleinwürmer (Enchytraeidae)             | 30 000 – 100 000                                                                     |
| 1 - 80           | Fliegen- und Mückenlarven (Diptera)     | 100 - 300                                                                            |
| 1 - 80           | Käferlarven (Coleoptera)                | 300 – 800                                                                            |
| 2 - 80           | Schnecken (Gastropoda, nur im Grünland) | 50                                                                                   |
| 3 - 80           | Tausendfüßler (Diplopoda)               | 50                                                                                   |
| 3 - 80           | Hundertfüßler (Chilopoda)               | 30                                                                                   |
| 20 - 150         | Regenwürmer (Lumbricidae)               | 100 - 450                                                                            |

Quelle: Aus SRU-Sondergutachten 1985

Die Hauptfunktion des Edaphons liegt in der Dekomposition organischer Stoffe und ihrer Rückführung in Pflanzennährstoffe. Für die Vergrößerung der Angriffsfläche für Bakterien und Pilze und deren Wachstumssteuerung („grazing“) sorgen die saprophagen Tiere.

Die Lebensweisen der wirbellosen Bodentiere sind geprägt durch die Ansprüche der Tiere an das Biotop und durch die Funktion der Tiere im Ökosystem.

BELOTTI (1993) leitet aus der Einteilung nach Lebensweisen ein Gliederungsschema ab, das die wirbellosen Bodentiere 16 Lebensformtypen zuordnet. Die Beziehung zwischen Bodentieren und Humusform wird von BELOTTI (1994) durch nachfolgende Tabelle dargestellt.

## Böden

**Tab. 2:** Lebensformtypen wirbelloser Bodentiere, Streuverarbeitungsprozesse und Humusformen (aus BELOTTI 1994)

| Vorherrschender Lebensformtyp nach Belotti (1993)                                                                                                                                    | Wichtigste Vertreter                                                                                                                                                                           | Prozesse                                              | Humusform (Horizontabfolge)                                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| 3<br>Saprophage und<br>mikrophytophage<br>Mesofauna der<br>Humusaufgabe                                                                                                              | Oribatiden<br>Kleine Dipterenlarven<br>(Enchytraeen)                                                                                                                                           | Streuzerkleinerung                                    | Rohhumus und Moder<br>(L-Of-Oh-Aeh oder<br>Ahe)                      |
| 5<br>Saprophage und<br>mikrophytophage<br>Makrofauna der<br>Humusaufgabe                                                                                                             | <i>Lumbricus rubellus</i> ,<br>Tipulidenlarven                                                                                                                                                 | Streuzerkleinerung,<br>± gleichzeitige<br>Einmischung | Mull-Moder*<br>(L-Of-OhAhh –Ah)<br>oder Flachmull*<br>(L-Of-Ahh-Ahu) |
| 13<br>Saprophage und<br>mikrophytophage<br>Makrofauna des<br>Mineralbodens<br>Und 16<br>Saprophage und<br>mikrophytophage<br>Makrofauna der<br>Humusaufgabe und des<br>Mineralbodens | Endogäische<br>Regenwürmer:<br>Aporrectodea-Arten<br><br>Anezische<br>Regenwürmer:<br><i>Lumbricus terrestris</i> ,<br><i>L. polyphemus</i> , <i>L.</i><br><i>friendi</i> , <i>L. badensis</i> | Einmischung kaum<br>zerkleinerter Streu               | Tiefmull*<br>(L-AH)                                                  |

\* Arbeitsbezeichnung

Ahh, Ahu: Subhorizonte des Ah nach BABEL (1971)

Ahh: stark humoser oder sehr stark humoser oberer Subhorizont,

Ahu: humusärmerer unterer Subhorizont

### 3. Exposition von Bodentieren

Die Lebensweise der Bodentiere bestimmt maßgeblich auch die Exposition gegenüber Stoffeinträgen im Boden. Das Verhalten der Stoffe im Boden, d.h. ihre Absorption durch organische Substanz, ihre Lösung im Porenwasser und ihr Übergang in die Bodenluft und der Aufenthaltsort der bevorzugten Porengröße einer Art nehmen entscheidend Einfluß auf die (Bio)verfügbarkeit eines Stoffes für den Bodenbewohner. Diese teilweise sogar artspezifische Bioverfügbarkeit und die intrinsische Toxizität eines Stoffes machen schließlich aus, ob für eine Art nachteilige Effekte erwartet werden können.

Von der Bodenmikrofauna abgesehen, besiedelt die Mesofauna mit typischen Vertretern wie den Collembolen, Milben, Nematoden, die Makrofauna (Spinnen, Insekten, Enchytraeen, Asseln, Tausendfüßler etc.) und die Megafauna mit den Regenwürmern den Bereich größerer Poren ab 0,1 mm der in etwa dem Wurzelbereich entspricht. Dabei können auch innerhalb einer Größenordnung die Ansprüche sehr unterschiedlich sein. Nematoden beispielsweise sind auf wassergesättigte Poren angewiesen, während die

ebenfalls zur Mesofauna gehörenden Collembolen, die auch ähnliche Porengrößen besiedeln, die luftgefüllten Poren der oberen Bodenschicht oder Auflage bevorzugen.

Die Expositionspfade für eine Tierart können dabei nur über einen Weg, z.B. das Porenwasser, oder aber über mehrere Pfade, z.B. Porenwasser, Bodenluft und Nahrung, gehen. Der anezisch lebende Regenwurm *Lumbricus terrestris* bietet ein Beispiel für eine hohe Expositionsvielfalt.

Die exakte Trennung nach Anteilen der Expositionspfade erscheint jedoch schwierig, jedenfalls mittels chemischer Analyse. Debus und Hund (1997) liefern dafür Beispiele: Im Falle von Substanzen geringer Wasserlöslichkeit ist ein wichtiger Expositionspfad der Kontakt der Körperoberfläche mit den kontaminierten Bodenpartikeln. Ob und in welchem Maße der Organismus kontaminiert wird, hängt von den Verteilungsprozessen auf der Körperoberfläche ab. Kommt es dazu, kann der Stoff im Organismus verteilt, adsorbiert und akkumuliert werden. Die Quantifizierung mittels chemischer Analyse erfordert Daten zum

- Gesamtgehalt im Boden einschließlich der nichtextrahierbaren Gehalte und den
- durch „Lösungsvermittler“ verfügbaren Anteil auf der Körperoberfläche.

Hierdurch wird verständlich, weshalb Testergebnisse an unterschiedlichen Arten bei gleichem Substrat und umgekehrt große Spannen umfassen können.

**Tab 3:** LOEC-Werte (mg a.i./kg a.s.) für Mortalität und Reproduktion aus Monospezies tests mit Enchytraeen, Regenwürmern und Collembolen (N=Anzahl Testergebnisse) – Vergleich der Empfindlichkeit der Testparameter und Testorganismen -

|                 | <b>Testorganismus</b> |       |            |       |            |       |            |       |            |       |            |       |
|-----------------|-----------------------|-------|------------|-------|------------|-------|------------|-------|------------|-------|------------|-------|
|                 | E.albidus             |       |            |       | E.fetida   |       |            |       | F.candida  |       |            |       |
|                 | Mortalität            |       | Reprodukt. |       | Mortalität |       | Reprodukt. |       | Mortalität |       | Reprodukt. |       |
|                 | mg a.i./kg            |       | mg a.i./kg |       | mg a.i./kg |       | mg a.i./kg |       | mg a.i./kg |       | mg a.i./kg |       |
|                 | N                     | MIN   | N          | MIN   | N          | MIN   | N          | MIN   | N          | MIN   | N          | MIN   |
| <b>Substanz</b> | N                     | MIN   | N          | MIN   | N          | MIN   | N          | MIN   | N          | MIN   | N          | MIN   |
| 4-Nitrophenol   | 1                     | 100.0 | 1          | 56.0  | 1          | 65.0  | 1          | 32.0  | 3          | 1000  | 3          | 100.0 |
| Phenmedipham    | 1                     | 157.0 | 1          | 88.2  | 0          |       | 1          | 49.6  | 5          | 28.3  | 6          | 8.8   |
| Dichlobenil     | 0                     |       | 0          |       | 0          |       | 1          | 21.4  | 5          | 21.2  | 5          | 6.7   |
| Carbendazim     | 0                     |       | 1          | 3.6   | 3          | 3.6   | 4          | 1.2   | 0          |       | 0          |       |
| Chlorpyrifos    | 0                     |       | 1          | 153.6 | 1          | 268.8 | 1          | 48.0  | 4          | 0.2   | 4          | 0.1   |
| Parathion       | 1                     | 282.4 | 1          | 282.4 | 3          | 90.8  | 2          | 28.2  | 4          | 0.2   | 5          | 0.0   |
| Lindan          | 1                     | 5.6   | 1          | 5.6   | 0          |       | 0          |       | 3          | 3.2   | 4          | 0.3   |
| NTA             | 0                     |       | 0          |       | 0          |       | 1          | 1000  | 0          |       | 0          |       |
| Na-PCP          | 1                     | 100.0 | 1          | 100.0 | 1          | 100.0 | 1          | 56.0  | 3          | 316.0 | 3          | 178.0 |
| Phenanthren     | 1                     | 560.0 | 1          | 100.0 | 1          | 560.0 | 1          | 100.0 | 1          | 320.1 | 1          | 180.0 |
| TCEP            | 1                     | 1000  | 0          |       |            |       |            |       | 0          |       | 1          | 180.0 |
| TPBS            | 0                     |       | 1          | 320.0 |            |       |            |       | 4          | 1000  | 5          | 178.0 |

Trotz aller Schwierigkeiten, die aus den genannten und anderen unerwähnt gebliebenen Gründen für die Gefährdungsabschätzung von Bodenzönosen bestehen bleiben, gewinnen Untersuchungsverfahren an Bedeutung, mit Hilfe derer Summenwirkungen bekannter und unbekannt bleibender Schadstoffe auf biologische Systeme erfaßt werden.

Ökotoxikologische Testverfahren mit ihrem Kriterium „Wirkung“ als Reaktion der stoffwechselphysiologischen Lebensvorgänge auf die stofflichen Einflüsse des Lebensbereiches erfassen die Gesamtheit aller Substanzen und ergänzen damit chemisch-physikalische Analysen.

#### 4. Existierende Testverfahren

Ein 1994 im Auftrag des Umweltbundesamtes erstellter Forschungsbericht zur „Entwicklung von biologischen Testsystemen zur Kennzeichnung der Bodenqualität (HUND 1994) kommt zu der weitgehend noch heute gültigen Feststellung: „Für die Abschätzung des Umweltgefährdungspotentials kontaminierter Standorte und für die Bewertung von Böden hinsichtlich ihrer Nutzung stehen derzeit keinerlei validierte Testsysteme zur Verfügung.“

Aus dem Bereich der Stoffprüfung – Pflanzenschutzmittel oder Industriechemikalien – stehen allerdings Testverfahren zur Verfügung. Beschränkt man sich auf international akzeptierte Testverfahren ist die Zahl, besonders mit Organismen des terrestrischen Bereichs, jedoch noch sehr begrenzt.

Die OECD hat sich um die Harmonisierung von ökotoxikologischen Testverfahren sehr früh Verdienste erworben: 1981 erschien in einer Richtlinienammlung die fast schon legendäre Guideline 207, Earthworm, Acute Toxicity Tests (OECD 1981).

Diese „Guideline“ beinhaltet zwei Prüfverfahren mit dem Kompostwurm *Eisenia fetida*, die sich hauptsächlich in ihrer Prüfdauer (2 Tage/2 Wochen) und im Testsubstrat (Filterpapier/Artificial Soil) unterscheiden. Nachdem gezeigt werden konnte, daß Effekte aus dem sogenannten Contact Filter Paper-Test in keinem Zusammenhang mit dem Artificial Soil-Test standen, wurde in anderen Gremien (EU, ISO), die sich später mit diesem Test befaßten, auf den Filter Paper-Test verzichtet.

Seit etwa 10 Jahren hat sich das Technical Committee 190, Soil Quality, der International Standards Organisation (ISO) zum Ziel gesetzt, validierte Testverfahren zur Beschreibung der Bodenbeschaffenheit zusammenzutragen und einem Normungsverfahren zu unterziehen. Das Subcommittee 4, Biological Methods, bestehend aus den 4 Working Groups, Effects on Soil Biodegradation (WG 1), Effects on Soil Fauna (WG 2), Effects on Soil Flora (WG 3) und Effects on Soil Microorganisms (WG 4) hat versucht, geeignete biologische Verfahren zu überarbeiten und als internationale Norm zu veröffentlichen. All diese Aktivitäten werden begleitet und maßgeblich unterstützt von den nationalen Normungseinrichtungen und dort angesiedelten Arbeitsgruppen. Von der ISO veröffentlichte Normen werden Teil des deutschen Normenbestandes (DIN-Norm) und sind Grundlage für Normungsaktivitäten der Europäischen Normungskommission (CEN) und des OECD Updating Verfahrens des Test Guideline Programme.

Die nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über den Stand der Methodenentwicklung. In dieser Auswahl sind vor allem solche Testverfahren berücksichtigt, die als validiert und zu einem gewissen Grad als abgestimmt gelten können. Umfassende Übersichten finden sich bei RÖMBKE & MOLTMANN 1996 und LØKKE & VAN GESTEL 1997.

**Tab. 4:** Ökotoxikologische Testverfahren mit tierischen Bodenorganismen

| <b>Taxonomische Gruppen</b>                       | <b>Prüforganismen</b>                                              | <b>Prüfprinzip</b>                                                                                     | <b>Versuchsdauer</b>                                                                        | <b>Status</b>                                                          |
|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Oligochaeta,<br>Annelida                          | Regenwürmer<br>( <i>Eisenia fetida</i> )                           | Toxizitätstest im künstlichem Boden, Mortalität, LC 50                                                 | 14 Tage                                                                                     | OECD-Guideline 207<br>DIN/ISO Norm 11268-1                             |
|                                                   |                                                                    | Reproduktionstest in künstlichem (oder belastetem) Boden<br>NOEC, EC <sub>x</sub>                      | 4 Wochen<br>(oder +<br>4 Wochen)                                                            | DIN/ISO Vornorm 11268-2<br>BBA-Richtlinie VI 2-2<br>OECD geplant       |
|                                                   |                                                                    | Freilandtest<br>Abundanz<br>Biomasse                                                                   | 12 Monate                                                                                   | DIN/ISO Vornorm 11268-3<br>BBA-Richtlinie VI 2-3                       |
|                                                   | Enchytraeiden<br><i>Enchytraeus albidus</i><br><i>E. krypticus</i> | Reproduktionstests in künstlichem (oder belastetem) Boden<br>NOEC, EC <sub>x</sub>                     | 3 Wochen<br>(oder +<br>3 Wochen)                                                            | EG-Ringtest-Protokoll,<br>OECD geplant                                 |
|                                                   |                                                                    | <i>Cognettia sphagnetorum</i>                                                                          | Reproduktionstest (Fragmentierung)<br>Überlebensrate,<br>Juvenile, Torf +<br>LUFÄ 2.2 Boden | 10 Wochen<br>Entwurf<br>SECOFÄSE 3 <sup>rd</sup> Technical Report 1995 |
| Collembola<br>Apterigota<br>Insecta<br>Arthropoda | Springschwänze<br>Collembolen<br><b><i>Folsomia candida</i></b>    | Reproduktionstests in künstlichem (oder belastetem) Boden<br>NOEC, EC <sub>x</sub>                     | 4 Wochen<br>(oder +<br>4 Wochen)                                                            | DIN/ISO Vornorm 11267                                                  |
| Isopoda<br>Porcellionidae                         | Asseln<br><b><i>Porcellio scaber</i></b>                           | Toxizitätstest<br>Mortalität                                                                           | 4 Wochen<br>+                                                                               | Entwurf<br>SECOFÄSE                                                    |
|                                                   |                                                                    | Expos. via Nahrung + Artificial Soil<br>Biomasse<br>Futtermittelverbrauch,<br>NOEC                     | 4 Wochen                                                                                    | 3 <sup>rd</sup> Technical Report 1995                                  |
| Acarina<br>Chelicerata<br>Arthropoda              | Bodenraubmilben<br>Gamasina<br><i>Hypoaspis aculeifer</i>          | Reproduktionstest + Überlebensrate, Wachstum, Artificial Soil oder LUFÄ Boden, NOEC                    | 3 Wochen                                                                                    | Entwurf<br>SECOFÄSE 3 <sup>rd</sup> Technical Report 1995              |
|                                                   |                                                                    | Reproduktionstest<br>Exposition über Beute (Enchytraeen, Collembolen) Artificial Soil, Gips-Aktivkohle | 3-4 Monate                                                                                  | Entwurf<br>BBA 1992                                                    |
| Acarina                                           | Oribatida                                                          | Überlebensrate                                                                                         | + 10 Wochen                                                                                 | Entwurf                                                                |

## Böden

|                                                  |                                             |                                                               |                          |                                                                                  |
|--------------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
|                                                  | <i>Platynothrus peltifer</i>                | Reproduktion<br>Artificial Soil +<br>Grünalgen<br>LC 50, NOEC |                          | SECOFASE<br>3 <sup>rd</sup> Technical<br>Report<br>1995                          |
| Coleoptera<br>Pterigota<br>Insecta<br>Arthropoda | Laufkäfer<br><b><i>Poecilus cupreus</i></b> | Akute Toxizität<br>Kontam. Substrat<br>(PSM, Chem.)           | 14 Tage                  | IOBC, EPPO,<br>Richtlinienentwurf<br>BBA Richtlinie<br>VI 23-2.1.8 1994          |
|                                                  | <b><i>P. cupreus</i></b><br>(Larven)        | Akute Toxizität<br>Kontam. Substrat<br>(PSM, Chem.)           |                          | Entwurf                                                                          |
| Coleoptera.<br>Staphylinidae                     | Kurzflügler<br><i>Philonthus cognatus</i>   | Reproduktionstest                                             | 1 Woche<br>+<br>6 Wochen | BBA Richtlinie<br>VI 23-2.1.10 1994<br>SECOFASE<br>3 <sup>rd</sup> Techn. Report |

## 5. Auswahl und Beurteilung von Testverfahren

Die Anforderungen, die an Testorganismen und Testverfahren gestellt werden, lassen sich folgenden Kriterien zuordnen (nach RÖMBKE, BAUER und MARSCHNER):

Für Testorganismen gelten als

Ökologische Kriterien:

- „wichtige“ Rolle im Ökosystem Boden
- weite Verbreitung in verschiedenen Bodentypen
- Abdeckung verschiedener trophischer Ebenen
- Lebensweise mit engem Kontakt zum Boden

Praktische Kriterien:

- leichte Haltung und Züchtbarkeit
- Schnelle Generationsfolge
- geringe Empfindlichkeit gegenüber Schwankungen der Umweltbedingungen
- niedriger Kostenaufwand (Personal, Geräte)

Die Eignung der Testverfahren ist nach Kriterien wie

- Praktikabilität
- Aufwand
- Standardisierbarkeit
- Anzahl und Empfindlichkeit der Meßparameter
- Validitätskriterien
- Reproduzierbarkeit und Replizierbarkeit
- Erfahrungsbasis
- Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Freilandverhältnisse
- Bandbreite der Einsetzbarkeit

einzuschätzen.

Testverfahren, wie in Tabelle 2 zusammengestellt, erfüllen solche Kriterien in unterschiedlicher, niemals idealer Weise.



Einer der derzeit wohl am meisten eingesetzten terrestrischen Testorganismen, der Kompostwurm *Eisenia fetida andrei* oder die verwandte Art *E. fetida fetida*, erfüllen die beiden erstgenannten Kriterien für Testorganismen nicht, konnten sich aber in der Praxis durchsetzen, da diese Arten mangels Diapause ganzjährig für Testzwecke in Laborzuchten zur Verfügung stehen und nachgewiesen werden konnte, daß ihre Empfindlichkeit gegenüber Schadstoffen nicht generell verschieden gegenüber Acker- oder Grünlandarten ist.

Die in Tests mit Collembolen häufig verwendete Art *Folsomia candida* ist nicht unbedingt eine typische Vertreterin oder gar dominante Art hiesiger Collembolenzönosen. Sie ist aber weltweit verbreitet, ist eine im Boden lebende Art und vermehrt sich parthenogenetisch, was sicherlich maßgeblich zur Beliebtheit als Testorganismus beigetragen hat. Viele Testverfahren verwenden ein künstliches Bodensubstrat, das aus Torf, Quarzsand, Kaolinit, Kalziumkarbonat und Wasser besteht.

Die Gründe für die Wahl dieses „artificial soil“ als Testsubstrat sind inzwischen vorrangig darin zu suchen, daß dieses Substrat ausreichend standardisiert ist, seine Bestandteile leicht zu beschaffen sind und die Datenbasis von Tests, die dieses Substrat verwenden, relativ groß ist. Ein weiterer Vorteil besteht darin, daß Testorganismen entweder leicht ausgetrieben werden können oder, falls sie wie im Falle der Collembolen aufgeschwemmt werden, das Substrat im Wasser in seine Bestandteile verfällt.

Nachteilig mit Blick auf die Übertragbarkeit der Testergebnisse auf natürliche Böden ist der hohe Torfanteil (10%) und die 20% Weißton, die insgesamt eine vergleichsweise hohe Adsorptionskapazität unpolaren Substanzen gegenüber bewirkt, so daß die Wirksamkeit durch die geringere Verfügbarkeit unterschätzt werden könnte. Beim Vergleich zweier natürlicher Böden mit dem „artificial soil“ Substrat fand VAN GESTEL (1991) Unterschiede zwischen den LC 50-Werten in Toxizitätstests mit dem Kompostwurm *Eisenia fetida*, die unterschiedlichen pH-Werten und Gehalten an organischer Substanz zugeschrieben wurden. Diese Differenzen waren jedoch geringer als diejenigen zwischen verschiedenen Labors, die die gleichen Tests ausgeführt hatten.

Nicht nur die von den Boden- und Stoffeigenschaften beeinflusste Bioverfügbarkeit, sondern auch die Lebensweise der Testorganismen wirkt sich auf die Expositionssituation aus, da die Exposition mit Chemikalien über das Porenwasser, über die mit der Nahrung aufgenommenen, meist organischen Bodenpartikel und über den Luftpfad erfolgen kann, was quantitativ schwer zu trennen ist. Auch Meidereaktionen, z.B. bei Collembolen (KROGH 1995), sind bekannt.

## Einsatz ökotoxikologischer Testverfahren mit Organismen der Bodenfauna zur Bewertung von Böden als Lebensraum

Die vorgestellten Testverfahren wurden zur Abschätzung des Gefährdungspotentials von Pflanzenschutzmitteln und Chemikalien als Instrumente zur Erfüllung der entsprechenden gesetzlichen Anforderungen entwickelt. Wie die ca. 10-jährige Normungstätigkeit im Bereich von Verfahren zur Charakterisierung der Bodenbeschaffenheit zeigt, besteht darüberhinaus Bedarf an Methoden zur biologischen Charakterisierung von Böden. Der bisherige Normungsstand berücksichtigt den aus diesem Einsatzbereich erwachsenden Modifikationsbedarf mangels ausreichender experimenteller Erfahrungen noch nicht. Überlebensraten oder der Reproduktionserfolg der Testorganismen ist häufig stark abhängig von relativ eng begrenzten Spannen von Substratbedingungen wie des pH-Wertes, der Feuchte der Krümelstruktur u.a.

Am Institut für Tierphysiologie der Freien Universität Berlin wird derzeit ein Projekt (Projektleitung: Prof. Dr. Achazi) zur Neuentwicklung und Praxiserprobung bodenbiologischer Testmethoden bearbeitet. Eine der Zielsetzungen ist dabei, Testmethoden mit Bodentieren neu oder weiter zu entwickeln, zu standardisieren und zu validieren sowie auf ihre Eignung zur integralen biologischen Bewertung des Erfolgs unterschiedlicher Sanierungsmethoden zu prüfen.

Als Testsysteme wurden hierfür der Enchytraeen-Reproduktionstest mit *Enchytraeus crypticus*, der Collembolen Reproduktionstest mit *Folsomia candida* und ein Fraßaktivitätstest (Köderstreifen-Test nach v.-Törne) ausgewählt. Die eingesetzten Böden waren mit Mineralölkohlenwasserstoffen und Trinitrotoluol belastet. Als Kontrollboden wurde LUFA 2.2 – Boden verwendet. Die vorläufigen Ergebnisse rechtfertigen nach Aussage der Berichtersteller „die Annahme, daß Sanierungserfolge von MKW-, PAK- und TNT-belasteten Böden sowohl mit dem Enchytraeen-Test als auch mit dem Collembolen-Test bewertet werden können.“ Für die Nutzung des Köderstreifentests als Beurteilungsmittel werden weitere Untersuchungen für notwendig gehalten.

In eigenen ersten Untersuchungen zur Eignung des Testsystems „Collembolen-Reproduktionstest“ mit Bodenproben aus verunreinigten Böden einer ehemaligen LPG in Ostbrandenburg, in denen u.a. Phenanthren, Pyren und Chrysen gefunden wurden, zeigte sich dieser Testorganismus nur empfindlich gegenüber der unverdünnten Variante. Eine Mischung zu gleichen Teilen mit Artificial Soil reichte aus, um den Reproduktionserfolg der Kontrollvarianten aus Artificial Soil, örtlichem Vergleichsboden und einer Mischung beider zu erreichen.

Tests mit der Reinsubstanz Phenanthren hatten allerdings LOEC-Werte (Reproduktion) von 180 mg/kg TG Artificial Soil für Collembolen ergeben. Die entsprechenden Schwellenwerte für Regenwürmer bzw. Enchytraeen lagen bei 100 mg/kg. In der verunreinigten Probe lag der Phenanthregehalt zwischen 11 und 28 mg/kg Boden.

## 7. Ausblick

Wie die Erfahrungen mit ökotoxikologischen Testverfahren aus der Stoffprüfung (Chemikaliengesetz, Pflanzenschutzgesetz) lehren, gibt es das gleichermaßen sensible wie praktikable und kostengünstige Testsystem nicht, so daß sowohl zur Stoffcharakterisierung als auch zur Beschreibung der Bodenqualität verunreinigter Standorte vor oder nach Sanierungsmaßnahmen mehrere Testsysteme, u. U. nutzungsbezogen, zur Charakterisierung herangezogen werden sollten. Die Liste geeigneter Testsysteme kann sicherlich erweitert werden und bestehende Testsysteme bedürfen noch verschiedener Modifikationen, um sie für diesen Anwendungsbereich zu optimieren.

Einen ersten Versuch, Hilfestellung bei der Auswahl biologischer Testmethoden für Böden zu geben, hat eine Ad-hoc-Arbeitsgruppe „Methoden zur toxikologischen/ökotoxikologischen Bewertung von Böden“ der Deutschen Gesellschaft für Chemisches Apparatewesen, Chemische Technik und Biotechnologie (DECHEMA 1995) gemacht. Zur Zeit wird im Rahmen der Normungsaktivitäten der International Standards Organisation (ISO) im Technischen Komitee 190 „Soil Quality“ an einer international abgestimmten Richtlinie, ISO-CD 15799, Soil quality – Guidance on the ecotoxicological characterization of soils and soil materials, gearbeitet.

## Literatur

- Becker, H. (1991): Bodenorganismen – Prüfungskategorien der Forschung. Z. Umweltchem. Ökotox. **3(1)**: 19-24.
- Belotti, E. (1993): Ein generalisiertes Konzept der Lebensformtypen wirbelloser Bodentiere als Hilfsmittel für den Bodenschutz. Mitteiln. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch., **72/I**, 491-494.
- Belotti, E. (1994): Lebensformtypen wirbelloser Bodentiere, Streuverarbeitungsprozesse und Humusformen. Mitteiln. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch., **74**, 45-48.
- Debus, R. & Hund, K. (1997): Ecotoxicological Tests for Effect Assessment of Bioavailable Portion of Soil Contaminants, in Bioavailability as a Key Property in Terrestrial Ecotoxicity Assessment and Evaluation. Fraunhofer IRB Verlag 124 S.
- Dunger, W. (1983): Tiere im Boden. Neue Brehm Bücherei, A. Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt.
- Eisenbeis, G. & M. Joschko (1995): Bodenökologie, Bodenorganismen und Bodeneigenschaften. Mitteiln. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch., **78**, 33-38.
- Van Gestel, C.A.M. (1991): Earthworms in ecotoxicology. Diss. Univ. von Utrecht, 197 S.
- Hund, K. (1994): Entwicklung von biologischen Testsystemen zur Kennzeichnung der Bodenqualität. Texte Umweltbundesamt **45/94**, 89 S.
- Kreysa G. & J. Wiesner, Hrsg., (1995): Biologische Testmethoden für Böden/Ad-hoc-Arbeitsgruppe „Methoden zur toxikologischen u. ökotoxikologischen Bewertung von Böden“. DECHEMA Frankfurt/M. 46 S.
- Krogh, P.H. (1995): Does a heterogenous Distribution of food or pesticide affect the outcome of toxicity tests with Collembola ? Ecotox. Envir. Safety **30**: 158-163.

## Böden

- Løkke, H. & C.A.M. van Gestel (1997): Handbook of Soil Invertebrate Toxicity Tests. John Wiley & Sons, Ltd.
- OECD (1981): Guidelines for testing chemicals – method 207, earthworm, acute toxicity tests. OECD Paris.
- Padberg, K.H. (1997): Bodenschutzgesetzgebung aus der Sicht des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten in Strategien zum Bodenschutz in der pflanzlichen Produktion. Mitteilgn. Biol. Bundesanst. Land- u. Forstwirtschaft. Berlin-Dahlem, Heft **328**, 6-11.
- Römbke, J. & J.F. Moltmann (1996): Applied Ecotoxicology. CRC Press, Inc., 282 S.
- Rudolph, P., Boje, R. (1986): Ökotoxikologie – Grundlagen für die ökotoxikologische Bewertung von Umweltchemikalien nach dem Chemikaliengesetz, Handbuch des Umweltschutzes, ECOMED.
- Schlosser, H.J. (1988): Auswertung ökotoxikologischer Forschungen zur Belastung von Ökosystemen durch Chemikalien. F+E-Vorhaben 0373934 des BMFT, Projektleitung Biologie, Ökologie, Energie der KFA Jülich (Hrsg.)